

J. C. Schmidt
BEITRAEGE

ZUR

KENNTNISS UND NAMENTLICH ZUR FAERBUNG

DER

MASTZELLEN.



INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWUERDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHUELFE

DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTAET

ZU

GOETTINGEN

VORGELEGT VON

OTTO NORDMANN

AUS

OSNABRUECK.



HELMSTEDT,

DRUCK VON J. C. SCHMIDT.

1884.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

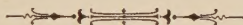
BEITRAEGE

ZUR

KENNTNISS UND NAMENTLICH ZUR FAERBUNG

DER

MASTZELLEN.



INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWUERDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHUELFE

DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTAET

ZU

GOETTINGEN

VORGELEGT VON

OTTO NORDMANN

AUS

OSNABRUECK.

HELMSTEDT,
DRUCK VON J. C. SCHMIDT.
1884.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Orth
sage ich für die mannigfache, gütige Unterstützung bei
vorliegender Arbeit meinen wärmsten Dank.

HERRN DR. MED. H. LAUENSTEIN
IN GOETTINGEN

ALS

EIN ZEICHEN

AUSGEZEICHNETSTER

VEREHRUNG UND HOCHACHTUNG

GEWIDMET

VOM

VERFASSEN.

In seiner ersten Arbeit über die Mastzellen ¹⁾ sprach *Ehrlich* seine Verwunderung darüber aus, dass bis dahin die Anilinfarbstoffe, welche in der Industrie schon eine so grosse Rolle spielten, in der mikroskopischen Technik erst so wenig benutzt würden. Den Werth, die grosse Bedeutung, welche dieselben auch für diese hatten, gezeigt zu haben, ist zum nicht geringen Theil sein Bemühen, sein Verdienst gewesen. Die genaue Kenntniss einer nicht kleinen Zahl von nur mikroskopisch erkennbaren Gebilden verdanken wir zweifelsohne der Anwendung der Anilinfarbstoffe. Für eine Anzahl von Zellen etc. etc. liessen sich so „specifische Färbungen“ auffinden, ein Befund, welcher es ermöglicht, jene auf das genaueste auf ihr Aussehen, auf ihr Vorkommen zu untersuchen; so konnte es gelingen, festzustellen, ob sie physiologischer oder pathologischer Natur seien; so war es möglich zu erfahren, ob sie vielleicht in pathologischen Organen an Zahl zu- oder abgenommen hätten.

Wesentlich erleichtert werden diese Untersuchungen durch die „maximale Entfärbung“ des Gewebes, durch den Umstand, dass dieses in bestimmten Flüssigkeiten die Farbe, welche es vorher in dem Anilinfarbstoff angenommen hatte, verliert, die Gebilde dagegen, welche uns gerade interessiren, unverändert gefärbt bleiben.

¹⁾ Archiv für mikroskopische Anatomie. XIII. Band. 1877.

Meistens wird die „specifische Färbung“ gleichzeitig mit der „maximalen Entfärbung“ benutzt werden; so geschah und geschieht es auch bei der Untersuchung der Mastzellen, deren Geschichte uns ein schönes Bild geben von der grossen Bedeutung der Anilinfarbstoffe.

Waldeyer beschrieb ¹⁾ als im lockern Bindegewebe vorkommend grosse, rundliche, grob granulirte Zellen; dem im Grossen und Ganzen gleichen äussern Erscheinen nach wurden sie auf eine Stufe gestellt mit den Bildungszellen des embryonalen Körpers, den Zellen der Zwischensubstanz des Hodens, denjenigen der Steissdrüse, der Nebenniere etc.; sie alle wurden unter dem gemeinsamen Namen „Embryonal- oder Plasmazellen“ vereinigt. In seiner für die Kenntniss der Mastzellen Grund legenden Arbeit zeigte *Ehrlich* ²⁾ zuerst, in welcher charakteristischen Weise die im Bindegewebe sich findenden, von *Waldeyer* als „Plasmazellen“ bezeichneten Zellen in bestimmten Anilinfarben sich färbten, wie sehr diese Zellen alsdann vor allen übrigen durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Säure sich auszeichneten. Eine Anzahl von Farbstoffen gab er an, in welchen diese Zellen „metachromatisch“ sich färben; unter ihnen musste er einige ausscheiden, da sie weniger resistent gegen Säure waren und vermochte so die Zusammensetzung einer Farbstofflösung anzugeben, vermöge welcher es gelingen konnte, in jedem Organ die An- oder Abwesenheit der *Waldeyer*'schen „Plasma“, von *Ehrlich* später „gekörnzte, granulirte oder Mastzellen“ genannten Zellen nachzuweisen; die Mastzellen allein wurden durch die von ihm angewandte Farbstofflösung gefärbt. So war es *Ehrlich* möglich, die Zahl der *Waldeyer*'schen

¹⁾ Archiv für mikroskopische Anatomie. Band XI. 1875.

²⁾ Archiv für mikroskopische Anatomie. Band XIII. 1877.

„Plasmazellen“ zu beschränken, den in der Zwischensubstanz des Hodens, den in der Nebenniere etc. sich findenden Zellen die Berechtigung, mit den „Mastzellen“ des Bindegewebes auf eine Stufe gestellt zu werden, abzusprechen ¹⁾. In der von *Ehrlich* begonnenen Weise setzte *Westphal* ²⁾ die Untersuchungen fort. Mit Hülfe der *Ehrlich*'schen sauren Dahialösung gelang es ihm, nachzuweisen, wie oft schon bei früheren Untersuchungen des thierischen Bindegewebes die Mastzellen erkannt und beschrieben waren. Schon *Waldeyer* (l. c.) erwähnt, dass seine „Plasmazellen“ von *Kühne* ³⁾ beschrieben seien; *Westphal* zeigte, dass *Kühne*'s dritte Form der im Bindegewebe vorkommenden Zellen in Gestalt, Aussehen und namentlich in der Färbung mit den *Ehrlich*'schen Mastzellen vollkommen übereinstimmt. Die von *Cohnheim* ⁴⁾ in der Froschzunge beschriebenen Zellen wurden von *Westphal* als identisch mit den Mastzellen nachgewiesen, ebenso die von *Schöbel* beschriebenen, in der Flughaut der Fledermaus vorkommenden Zellen.

Gelang es so, in vielen Fällen frühere Untersuchungen zu bestätigen, von den verschiedensten Forschern in den mannigfachsten Organen beschriebene Gebilde auf Grund der allen gemeinsamen Färbung mit dem gemeinsamen Namen „Mast- oder granulirte Zellen“ zu belegen, so war es auf der andern Seite auch *Westphal* möglich, Gebilden, deren Bedeutung falsch beurtheilt, deren Werth überschätzt war, die richtige Stelle anzuweisen. *Fried-*

¹⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie; physiologische Abtheilung. 1879, pag. 166 und folgende.

²⁾ Inaugural-Dissertation. Berlin. 1880.

³⁾ Untersuchungen über das Protoplasma und seine Contractilität.

⁴⁾ *Virchows Archiv* X.

länder's als Ganglienzellen beschriebene Zellen ¹⁾ wies *Westphal* als identisch mit den Mastzellen nach.

Der Werth der „spezifischen Färbung“ auf einzelne Gebilde ist recht ersichtlich beim Verfolgen der Arbeiten *Ehrlich's* über die im normalen Thierblut vorkommenden Zellen. Mit Hülfe der „spezifischen Färbung“ gelang es ihm, fünf verschiedene, nur „mikrochemisch von einander zu trennende spezifische Granulationen“ zu finden ²⁾.

Nur so war es *Spilling* ³⁾ möglich, in dem Blute einer an Leukaemie gestorbenen Frau die Mastzellen und andere „spezifische Granulationen“ aufzufinden.

Die grosse Bedeutung der Anilinfarbstoffe für die mikroskopische Technik, ihr Werth für bestimmte Untersuchungen kommt so recht zum Ausdruck bei der Betrachtung der Literatur über die Mikroorganismen. Schon vor der allgemeinen Verbreitung der Anilinfarbstoffe, schon bevor die Bedeutung dieser gerade für die Erkenntniss der Schizomyceten erkannt und gewürdigt war, theilten verschiedene Forscher Beobachtungen mit, nach denen sie für die eine oder andere Infectiouskrankheit, deren Aetiology zu erforschen ja fast ausschliesslich das Ziel der experimentellen Pathologie jetzt ist, den specifischen Mikroorganismus gefunden haben wollten. Kaum war solches veröffentlicht, und schon kamen Stimmen, welche diesen Befund nicht bestätigen konnten. Es fehlte die Controle. Diese konnte erst geübt werden, als man erfahren, dass die Mikroorganismen in Anilinfarbstoffen sich färben, als man dazu entdeckt hatte, wie verschieden die

¹⁾ Studien über automatische Herzbewegung. (Untersuchungen aus dem physiologischen Institut zu Würzburg. I. Theil 1867.

²⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie; physiologische Abtheilung. 1879, pag. 571 und folgende.

³⁾ Inaugural-Dissertation. Berlin. 1880.

einzelnen gegenüber bestimmten Anilinfarben sich verhalten, wie verschieden namentlich ihre Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol auf der einen, gegen Säuren auf der andern Seite ist. Erst jetzt konnte es gelingen, eine genaue Beschreibung von den einzelnen, bei den verschiedenen Krankheiten gefundenen Mikroorganismen zu geben, erst jetzt war es möglich, Untersuchungen über ihr Vorkommen anzustellen, jetzt durfte man, gestützt auf den constanten Befund bei gewissen Infectiouskrankheiten für einige von diesen einen bestimmten Mikroorganismus constataren; durch angestellte Cultur- und Impfversuche fand Alles dieses eine wesentliche Stütze.

Schon seit langer Zeit war man darauf bedacht, für die Tuberculose z. B. den specifischen Mikroorganismus nachzuweisen; in mannigfacher Gestalt sollte er gefunden sein, mehrere Male musste derselbe seine Gestalt, sein Aussehen ändern. Von *Klebs* als *Monas tuberculosum* beschrieben, musste nach den Untersuchungen *Baumgarten's* eine Stäbchenbakterie an seine Stelle treten; *R. Koch* ¹⁾ blieb es vorbehalten, als das Tuberkulosenvirus einen Bacillus nachzuweisen, welcher nach seinen eingehenden Untersuchungen vor allen übrigen Mikroorganismen, ausser dem Leprabacillus durch sein Sichnichtfärben in braunen Farbstoffen, Vesuvin z. B., sich auszeichnet. So war es dem Entdecker möglich, die Anwesenheit dieses Bacillus in den verschiedensten Organen, bei den mannichfachsten Formen der Tuberculose aufzufinden. Sehr bald, nachdem *Koch* seine Färbungsmethode publicirt, vermochte *Orth* ²⁾ durch eine Modification des ganzen Verfahrens

1) Berliner klinische Wochenschrift. 1882. Nr. 15.

2) Compendium der pathologisch-anatomischen Diagnostik. 3. Auflage 1884. pag. 22.

einmal die Bacillen gefärbt zu behalten, sodann aber auch gleichzeitig mit Picrolithioncarmin (*Orth*)¹⁾ eine Kernfärbung zu erzielen. Er wusch nämlich die Präparate, welche in der durch Kalilauge alkalisch gemachten Methylenblaulösung gefärbt waren, mit 1 % salzsaurem Alcohol (*Orth*)¹⁾ ab; Alles verlor die Farbe, die Tuberkelbacillen allein behielten sie. Alsdann wurden die Kerne mit Picrolithioncarmin gefärbt. Das so gewonnene Präparat liess an Schönheit und Uebersichtlichkeit Nichts zu wünschen übrig.

Ehrlich gab²⁾ alsdann eine Modification der Farbflüssigkeit für die Tuberkelbacillen an; anstatt mit Kalilauge wurde die Farbstofflösung durch Anilinöl alkalisch gemacht. Auch er benutzte zum Entfärben der Präparate Säure; er wandte eine 33 $\frac{1}{3}$ % Salpetersäure an. In dieser verlor Alles bis auf die Bacillen die Farbe. So gelang es, nur Bacillen gefärbt zu erhalten, so war es möglich, über ihre Structur, ihre Zusammensetzung genaue Beobachtungen zu machen.

Freilich sollten die Angaben *Koch's* und *Ehrlich's* bezüglich der Tuberkelbacillen unangefochten nicht bleiben; *Spina*³⁾ glaubte in seinen Untersuchungen zu Resultaten gekommen zu sein, welche es ihm als unthunlich erscheinen liessen, einen specifischen Tuberculosenmikroorganismus anzunehmen. Ihm wollte es gelungen sein, einmal auch Tuberkelbacillen braun gefärbt, auf der andern Seite aber auch Fäulnissbacillen, wenn diese nach der Färbung mit Methylenblau dann mit Säure behandelt

¹⁾ Notizen zur Färbetechnik. Berliner klinische Wochenschrift. 1883. Nr. 28.

²⁾ Deutsche med. Wochenschrift. 1882. Nr. 19.

³⁾ Studien über Tuberculose. 1883. Wien.

wurden, wol gefärbt zu haben. Die Befunde dieses Forschers sind jedoch nach ihm von Niemandem bestätigt; und so bleiben die wichtigen Thatsachen bestehen, dass die Tuberkelbacillen

- 1) in braunen Farbstoffen sich nicht färben,
- 2) in Säure ihre Farbe behalten,

zwei Punkte, welche zur Auffindung dieser in Frage stehenden Mikroorganismen, zu ihrer Unterscheidung von andern von Anfang an von grosser Bedeutung waren und an Werth vorläufig gewiss nicht eingebüsst haben. Und worauf beruhen sie wieder? Doch auf Nichts anderm, als einmal auf der „specifischen Färbung“ oder, wie es in diesem Falle richtiger bezeichnet werden dürfte, auf einem „specifischen Sichnichtfärben“ und auf der „maximalen Entfärbung“, welche das Gewebe durch die Anwendung von Säure erfährt.

Geht schon aus den *Spina'schen* Resultaten und Folgerungen hervor, mit welch grosser Vorsicht man bei Untersuchungen auf Mikroorganismen verfahren, wie sehr man vor zufälligen Irrthümern sich hüten, wie genau man zwischen zufällig in die Präparate hineingekommenen Verunreinigungen und in dieselben hineingehörenden Mikroorganismen unterscheiden muss, so wächst noch die Gefahr, an unrichtiger Stelle Spaltpilze zu sehen, wenn man findet, dass in der Norm vorkommende Gebilde des thierischen Körpers bis zu einem gewissen Grade in ihrer Färbbarkeit in Anilinfarbstoffen mit Mikroorganismen übereinstimmen, wenn man weiss, dass die *Ehrlich'schen* Mastzellen ihre in Anilinfarbstoffen erhaltene Farbe behalten, sowol bei nachherigem Behandeln mit absolutem Alcohol, als auch mit Säure; das Gewebe kann in beiden Fällen ganz entfärbt sein.

Wie schon von *Ehrlich* ¹⁾ gezeigt wurde, färben die Mastzellen sich in fast allen Anilinfarben. Alle bis dahin bekannten konnten mit mehr oder weniger grossem Vortheil von ihm angewandt werden. In ihnen allen behalten sie, wenn die Präparate in Säure oder absolutem Alcohol liegen, ihre Farbe länger, als das Gewebe, sie können alsdann auf das genaueste allein untersucht werden. Wie viel von der Kernfärbung erhalten bleiben soll, hat man ganz in der Hand; je länger die Säure oder der absolute Alcohol einwirken, um so mehr wird das Gewebe entfärbt.

Ist es aber nicht ähnlich, wenn man Deckgläschen mit angetrockneter Substanz oder Schnitte auf Schizomyceten untersucht! Freilich werden letztere bekanntlich fast ausnahmslos durch Säuren sehr bald entfärbt, freilich entzieht ihnen auch absoluter Alcohol ein gut Theil der Farbe, entfärbt sie fast gleichmässig mit dem Gewebe, was, wie oben angeführt, bei den Mastzellen nicht der Fall ist. Aber Niemand wird sich doch zutrauen wollen, wenn er kein Vergleichsobjekt zur Hand hat, entscheiden zu können, ob die in den betreffenden Präparaten sich findenden Mastzellen wirklich so intensiv gefärbt sind, wie es nur möglich ist. Die Gefahr einer Verwechselung derselben mit Mikroorganismen wächst so aber nicht unbedeutend. Keinem Zweifel kann es denn auch unterliegen, dass in der letzten Zeit mehrfach die Mastzellen für Mikroorganismen angesehen und als solche beschrieben wurden.

Israel ²⁾ macht auf diese Gefahr aufmerksam, welche in der damals in Frage stehenden Sache besonders gross war, da in den Rotzknoten die Mastzellen in unendlicher

¹⁾ Archiv für mikroskop. Anatom. XIII. B. 1877.

²⁾ Berliner klin. Wochenschrift. 1883. Nr. 11. pag. 156.

Zahl sich fänden; er erinnert daran, dass damals erst vor kurzer Zeit eine Verwechselung von Mastzellen und Syphilisbakterien stattgefunden habe, ohne den Forscher zu nennen, welcher diesem Irrthum verfallen. Fraglich muss es gewiss erscheinen, ob alle von *Birch-Hirschfeld* gesehenen Syphilisbakterien wirklich solche waren, ob nicht ein Theil vielleicht als Mastzellen bei genauer Untersuchung daraufhin sich entpuppen werden. Dieser Zweifel ist um so mehr berechtigt, da bei den angewandten Färbemethoden die Mastzellen sich färben, als auch auf Zusatz stärkerer Säuren vollständig sich entfärben; und die Anwesenheit von Mastzellen in harten Schankern konnte *Westphal* ¹⁾ feststellen. — Als sehr zweifelhafter Natur müssen jedenfalls die von *Morison* ²⁾ beschriebenen Syphilisbakterien bezeichnet werden. Wol hat derselbe Forscher durch spätere, sorgfältigere Untersuchungen ³⁾ feststellen können, dass in den Schabpräparaten von syphilitischen Ulcerationen die Mikroorganismen, welche er früher als specifische ansehen zu müssen glaubte, von aussen in die syphilitischen Entzündungsheerde hineingekommen waren, wol gibt *Morison* zu, das Syphilisvirus nicht gefunden zu haben; ganz und gar scheint er jedoch in seiner zweiten Mittheilung von den Schnitten zu schweigen, in welchen er nach der ersten ebenfalls specifische Mikroorganismen gefunden haben wollte, Mikroorganismen, welche jedoch mit grösster Wahrscheinlichkeit durch Mastzellen vorgetäuscht wurden. Präparate nämlich vom menschlichen Darm, Hundezunge etc., welche ich in der von *Morison* angewandten Weise gefärbt und

¹⁾ l. c. pag. 37.

²⁾ Wiener med. Wochenschrift. 1883. Nr. 3, referirt in den „Fortschritten der Medicin“; 1883. Nr. 9.

³⁾ Prager med. Wochenschrift vom 23. März 1883, referirt in den „Fortschritten der Medicin“; 1883. Nr. 5.

entfärbt hatte, zeigten, wenn zur Färbung Methylenblau benutzt wurde, die schönsten, wol erhaltenen Mastzellen; die Fuchsinfarbe war durch das Eintauchen in 14% (1 : 6) Salpetersäure zum Schwund gebracht. Sehr unbestimmt lässt der Autor die Zeitdauer, welche die 14% Salpetersäure auf die Präparate behufs Entfärbens einwirken soll; auch ich musste so mehr willkürlich verfahren und darf nicht verschweigen, dass ich, argwöhnisch auf diese Syphilisbakterien, bemüht war, nur möglichst kurze Zeit die Salpetersäure einwirken zu lassen; nur dann gelang es mir, die Mastzellen gefärbt zu behalten. Ich möchte auch kein grosses Gewicht darauf legen, dass mit der Fuchsinfärbung unter den gleichen Umständen der Nachweis der Mastzellen nicht gelang. Man ist um so mehr geneigt, gerade die so gefärbten Schnitte länger in der Säure liegen zu lassen, da das ganze Präparat intensiver gefärbt, etwas langsamer durch Säure entfärbt wird, als das mit Methylenblau behandelte; um so leichter musste es so natürlich vorkommen können, dass die Mastzellen durch den längeren Aufenthalt in der Säure ihre Farbe verloren. Der Nachweis, dass mit Methylenblau die Mastzellen die Farbe behielten, ist meiner Ueberzeugung nach auch genügend, den Irrthum, welchem *Dr. Morison* verfallen, aufzudecken, was des Weiteren darin eine Stütze findet, dass auch seine Angabe, die von ihm gefundenen Syphilisbakterien seien meistens zu Gruppen vereinigt, sehr wol auf die Mastzellen passt, von denen schon *Ehrlich* und *Westphal* angeben, die Körner derselben seien oft im Gewebe zerstreut, sodass es kaum gelänge, die Stelle des Kernes anzugeben. Nicht möglich war es mir freilich, an den Körnern der auf diese Weise gefärbten Mastzellen eine andere Gestalt, als eine gleichmässig runde nachzuweisen; *Dr. Morison's* Syphilisorganismen sollten

cylindrische Stäbchen sein. Erschüttert wird jedoch, wie ich glaube, hierdurch meine Ansicht über die Natur der Syphilisbakterien, welche *Dr. Morison* gefunden haben wollte, keineswegs; nicht zweifeln möchte ich, dass *Dr. Morison* die Körner der Mastzellen für Syphilisbakterien ansah.

Welchen Anilinfarbstoff man auch wählen mag, ist er geeignet, Mikroorganismen zu färben, so wird man nicht fehlgehen in der allgemeinen Annahme, dass in ihm auch die Mastzellen sich färben; nicht umsonst wird man sich jedes Mal, wenn man ein Präparat durchmustert, in welchem man Mikroorganismen glaubt vermuthen zu dürfen, an diese Thatsache erinnern, manche unliebsame Irrthümer wird man so gewiss vermeiden.

In Fuchsin, Gentiana, Methylenblau, Dahlia, Methylviolett, in allen diesen Farbstoffen färben die Mastzellen sich sehr schön, mit Hülfe derselben Lösungen vermag man auch Mikroorganismen nachzuweisen. Eine aufmerksame Beobachtung, eine genaue Kenntniss des Aussehens der Mastzellen wird in den meisten Fällen vollauf genügen, einer Verwechselung derselben mit Mikroorganismen vorzubeugen. Ein anderes leicht anzuwendendes Rettungsmittel liegt in der Anwendung von Alcohol oder noch besser von Säure. Schon in reinem Alcohol verlieren die mit Anilinfarbstoffen gefärbten Zellen und die meisten Mikroorganismen allmählich ihre Färbung, in mit Säure versetztem, 1 % salzsaurem Alcohol z. B. oder in reiner Säure fast augenblicklich. In beiden Flüssigkeiten behalten die Mastzellen ihre Farbe erheblich länger, verschieden lange je nach dem angewandten Farbstoff. Mit Leichtigkeit wird es so gelingen, sofort zu entscheiden, ob das gefärbte, Verdacht erregende in einem Präparate Mastzellen sind oder nicht.

Am leichtesten wird man versucht sein, Mastzellen für Haufen von Mikroccoen anzusprechen. Nur bei oberflächlicher Untersuchung und bei Benutzung schwacher Vergrösserungen wird es gewiss vorkommen, dass man in den aufgefundenen und gefärbten Mastzellen Bacillen sieht. Hier wird sofort eine etwas stärkere Vergrösserung den Irrthum aufdecken. Handelt es sich dazu um Fäulnisbacillen z. B., so werden diese auch durch eine Spur von Säure sofort entfärbt werden, die Mastzellen unberührt davon bleiben. Schwieriger ist es, durch Behandlung des Präparates selbst eine Unterscheidung zu machen zwischen den Tuberkelbacillen und den Mastzellen. Wird, wie ich, um nicht missverstanden zu werden, nochmals hervorheben möchte, die Möglichkeit einer Verwechselung bei aufmerksamer Beobachtung kaum zugegeben werden können, so dürfte es doch von Interesse sein, der Frage einmal etwas näher zu treten, mit welchen Mitteln eine genaue Unterscheidung im Präparate selbst gemacht werden kann. Wie ich glaube, wird so auf das schönste ersichtlich sein, in welcher mannichfachen und bemerkenswerthen Weise die Mastzellen sich färben. Gleichzeitig wird man aber auch sich leicht überzeugen können, dass die Tuberkelbacillen mit ihrer Färbbarkeit, mit ihrer Resistenz gegen Säuren etc. nicht eine so ganz besondere, eigene Gruppe unter den durch Farbstoffe nachweisbaren Gebilden ausmachen, wie es nach den Publikationen über sie angenommen werden könnte; es wird sich sofort ergeben müssen, dass bis zu einem gewissen Grade die Mastzellen mit ihnen übereinstimmen.

Gleich den Tuberkelbacillen färben diese sich in Farbstofflösungen, welche nach der Vorschrift *Ehrlich's* mit Anilinoelwasser bereitet sind. Mit den Mastzellen theilen die Tuberkelbacillen die Eigenschaft, in einfach

wässrigen Lösungen sich zu färben; solches muss wenigstens nach neueren Angaben wol angenommen werden, nachdem wol *Lichtheim* ¹⁾ zuerst auf diesen Punkt aufmerksam gemacht hat; fast gleichzeitig konnte *Spina* ²⁾ dasselbe constatiren. Welche Farbstoffe benutzt werden, bleibt sich im Wesentlichen gleich; die Resistenz von Fuchsin, Gentiana, Methylenblau, Methylviolett, Dahlia etc. gegen Säuren ist nur verschieden gross; in dieser Hinsicht, in Bezug auf die Haltbarkeit der Färbung hat die Wahl eines geeigneten Farbstoffes grossen Werth. Auch für die Mastzellen dürften sich am meisten empfehlen Fuchsin, Gentiana, Methylenblau und Dahlia, zumal letztere noch mehr oder minder intensiv die Mastzellen „metachromatisch“ färben, worauf schon *Ehrlich* und *Westphal* hingewiesen haben; beide Autoren benutzten deswegen ja eine Dahliälösung zu ihren Untersuchungen, welche dazu den Vortheil hat, in Säure sehr lange sich zu halten. Bedeutend schneller, als die Tuberkelbacillen werden jedoch die Mastzellen, mögen sie gefärbt sein in einfach wässriger oder mit Anilinölwasser bereiteter Farbstofflösung, durch Säuren entfärbt. Waren die Uhrsälchen, in welchen die zu färbenden Mastzellenpräparate lagen, auch erwärmt worden, so genügte doch schon ein einfaches Eintauchen in 33 1/3 % Salpetersäure, um dem Schnitte die Farbe ganz zu nehmen. In einigen wenigen Fällen gelang es mir, wenn Präparate vielleicht 24 Stunden in Gentianalösung gelegen hatten, in ihnen, wenn sie eben in die 33 1/3 % Salpetersäure eingetaucht waren, Kerne und Mastzellen gefärbt zu behalten; ein etwas längeres Liegen in der Säure entfärbte den Schnitt jedoch

1) „Fortschritte der Medicin.“ 1883. Nr. 1.

2) l. c.

vollständig. Und die Tuberkelbacillenpräparate sollen nach *Ehrlich* so lange in dieser $33\frac{1}{3}$ % Salpetersäure liegen, als braune Dämpfe aufsteigen; *Balmer* und *Fraentzel* ¹⁾ liessen bei ihren Untersuchungen die Präparate 1—2 Minuten in der Säure; *Friedländer* ²⁾ giebt an, die Präparate seien „nach wenigen Minuten“ durch die Säure fast vollständig entfärbt. Durch die längere Einwirkung der Säure auf die gefärbten Tuberkelbacillen wird freilich nach *Orth* ³⁾ auch die Färbung dieser weniger intensiv; erheblich länger, als die Mastzellenfarbe erhält sie sich jedoch. Letztere wird auch schon durch 14 % Salpetersäure sehr schnell entfernt. Sehr wol gelingt es freilich, wenn man nur kürzere Zeit die Präparate in diese schwächere Lösung bringt, Alles zu entfärben bis auf die Mastzellen, durch etwas längeres Liegen in der Säure haben auch diese ihre Färbung ganz verloren. Wendet man noch dünnere Säurelösungen an, benutzt man vielleicht eine 2 % Salzsäurelösung, so behalten die Mastzellen, wenn die Schnitte in Methylenblau oder Gentiana gefärbt waren, die Farbe, selbst wenn sie einige Wochen in der Säure lagen; das übrige Gewebe ist dann ganz entfärbt. Legt man Schnitte, welche mit irgend einer Anilinfarbe gefärbt wurden, in 1 % salzsauren Alcohol, so verlieren die Gewebkerne in diesem sehr bald die Farbe, die der Mastzellen bleibt, wenn die Präparate auch lange Zeit, einige Wochen im salzsauren Alcohol verweilten, fast unverändert; zweifelsohne büsst sie an Intensität etwas ein. Freilich bestehen rücksichtlich dieses Punktes Unterschiede zwischen den einzelnen Farbstoffen;

¹⁾ Berliner klinische Wochenschrift. 1882. Nr. 45.

²⁾ Mikroskopische Technik, pag. 57.

³⁾ Compendium etc. 1884. 3te Auflage, pag. 25.

so werden Schnitten, welche in Methylviolett lagen, am frühesten entfärbt.

Sehr wol gelingt es, in Präparaten, welche vorher mit blauen Anilinfarbstoffen gefärbt waren, neben der Mastzellenfärbung durch Picrolithioncarmin eine prachtvolle Kernfärbung herbeizuführen. Ganz wie die Tuberkelbacillenpräparate, für welche *Orth* dieses in seinen „Notizen zur Färbetechnik“ ¹⁾ und in seinem Compendium ²⁾, pag. 24 angegeben, brauchen auch Schnitte mit Mastzellen keineswegs vorher in salzsauren Alcohol, damit die Kernfärbung, hervorgerufen durch die Anilinfarbstoffe, beseitigt würde; auch in ihnen tritt eine schöne, rothe Kernfärbung hervor, wenn die Präparate direkt aus der Anilinfarbe in das Picrolithioncarmin hineingethan werden, wenn erst, nachdem letzteres einige Zeit auf die Schnitte einwirken konnte, dieselben in salzsauren Alcohol kommen. Alsdann haben die Mastzellen die ihnen durch die Anilinfarbe gegebene Färbung unverändert behalten; ihre Kerne sind gleich den übrigen prachtvoll roth gefärbt.

Gleich den Tuberkelbacillen nehmen auch die Mastzellen in der von *Koch* angegebenen, durch Kalilauge alkalisch gemachten Methylenblaulösung eine schöne Farbe an; vergebens wird man jedoch, wenn man Präparate mit Mastzellen genau nach der Angabe *Koch's* nachher auch mit Vesuvium behandelt, alsdann nach blau gefärbten Mastzellen suchen; an ihre Stelle sind dunkelbraunschwarze Gebilde getreten, welche sehr wol zwischen dem heller gefärbten Grundgewebe, unter den blassbraunen Kernen

¹⁾ Berliner klinische Wochenschrift. 1883. Nr. 28.

²⁾ Compendium der pathologisch-anatomischen Diagnostik. 1884. 3te Auflage.

hervortreten. Nicht zufrieden mit der ersten Farbe haben somit die Mastzellen auch der zweiten sich noch bemächtigt. Versuche, in Präparaten, welche nach der *Ehrlich'schen* Modification mit irgend einem Farbstoff gefärbt, in salzsaurem Alcohol, soweit es erforderlich, entfärbt waren, Doppelfärbungen zu erzielen, brachten mir das gleiche Resultat; wählte ich auch genau nach der Angabe *Ehrlich's* entsprechend der ersten angewandten Farbe die zweite aus, stets musste ich mich überzeugen, dass die Mastzellen von dieser zweiten nicht unberührt blieben, stets zeigte sich mir der auffällige Befund, dass die Färbung derselben eine eigenthümliche Mischfarbe aus beiden angewandten Farbstoffen war; sehr bald konnte ich mich überzeugen, dass durch geeignete Behandlung der Präparate die ursprünglich vorhanden gewesene Farbe der Mastzellen wieder hergestellt werden konnte. Diese bemerkenswerthen Resultate seien hier angeführt. Dass sie bei den Tuberkelbacillen vermisst werden, braucht vielleicht nicht besonders noch hervorgehoben zu werden.

Untersucht wurden nach dieser Richtung von mir Methylenblau, Dahlia, Gentiana und Fuchsin; alle diese Farbstoffe wurden in wässrigen Lösungen angewandt. Zum Entfärben der in erwärmter Lösung gefärbten Schnitte einer Hundezunge diente 1% salzsaurer Alcohol. Zum Nachfärben benutzte ich Methylenblau, Fuchsin, Gentiana, Dahlia, Vesuvium und Picrolithioncarmin. Nachdem die Schnitte dann in absolutem Alcohol abgewaschen und entwässert waren, kamen sie in Bergamottöl und wurden theilweise in diesem, zum Theil in Dammarharz untersucht.

Die bei einfacher Färbung mit Methylenblau blaue Farbe der Mastzellen wurde, wenn die Schnitte darauf eine Zeit lang in Fuchsin gelegen hatten, dunkellila.

Ein Nachfärben der Präparate mit Gentiana liess die Mastzellen dunkelblau mit einem geringen Stich ins Roth erscheinen; auch Dahlia verlieh ihnen einen röthlichen Schimmer. Nach Liegen in Malachitgrün waren die Körner der Mastzellen dunkelgrün bei hellgrün gefärbten Kernen. Das Nachfärben mit Vesuvium verwandelte die blaue Farbe der Mastzellen in eine braunschwarze. Picrolithioncarmin änderte Nichts an der ursprünglichen Farbe.

Dahlia, welches allein die Mastzellen violett, fast roth zuweilen färbt, ging mit Fuchsin eine Verbindung ein, welche dieselben tiefdunkelblau erscheinen liess, die Kerne waren roth gefärbt. Methylenblau verdeckte ganz die rothe Beimengung der Dahliafarbe, ein dunkles Blau trat an ihre Stelle. Gentiana, welches auch allein etwas weniger roth, als Dahlia die Mastzellen färbt, machte die einfache Dahliafärbung dunkler; eine geringe Beimengung von Roth war auch jetzt noch zu sehen. Malachitgrün brachte eine schwer zu beschreibende Mischfarbe zu Stande, ein Dunkelblauschwarz, dem gegenüber die Kerne als hellgrün sich sehr schön abhoben. Vesuvium verdrängte die Dahliafarbe ganz; es setzte die ihm charakteristische an ihre Stelle. Beim Nachfärben mit Picrolithioncarmin blieb die ursprüngliche Farbe der Mastzellen unverändert.

Die bei einfacher Gentianafärbung erzielte Beimengung von Roth wurde durch Methylenblau zum Verschwinden gebracht; an die Stelle des Violett trat ein dunkles Blau; die Kerne waren hellblau gefärbt. Die durch Nachfärben mit Fuchsin erhaltene Farbe war ein Tiefblau bis Schwarz, an einzelnen Stellen ein dunkles Lilla; an diesen war also eine gewisse Beimengung von Roth erhalten. Durch Malachitgrün trat ein schönes Marine-

blau hervor. Vesuvin und Picrolithioncarmin verhielten sich in gleicher Weise, wie bei Methylenblau und Dahlia.

Die rothe Farbe des Fuchsin wurde durch Methylenblau in ein Gemisch von Blau und Roth umgewandelt. Nachfärben mit Dahlia liess eine fast für dieses charakteristische Farbe zu Tage treten. Gentiana gab mit Fuchsin ein Dunkelblau, Malachitgrün eine eigenthümliche Mischfarbe, in welcher Blau, Grün und Roth vereinigt zu sein schienen; bei schwacher Vergrösserung erschienen die Mastzellen fast schwarz, erst bei starker traten die Beimengungen deutlich hervor. Vesuvin färbte braunschwarz.

Aus sogleich zu besprechenden Gründen wage ich nicht zu versprechen, dass Jeder, welcher in gleicher Weise diese Nachfärbungen anstellen wollte, auch dieselben höchst eigenthümlichen Farben, unter denen neben sehr unangenehmen Mischfarben prachtvoll reine vertreten sind, erhalten wird. Von grossem Einfluss auf die Mischfarbe der Mastzellen ist nämlich einmal die Zeit der Einwirkung der zweiten Farbe, sodann die Dauer des Aufenthalts im absoluten Alcohol, nachdem das Präparat in der zweiten Farbe gewesen. Nur so lassen sich jedenfalls die verschiedenen Resultate erklären, welche Herr Prof. *Orth* und ich bei Anwendung gleicher Farben erzielten. Ersterer liess nach Vorfärbung mit Fuchsin die erwärmte Malachitgrünlösung nur ungefähr 5 Minuten auf die Schnitte einwirken; ich hatte, um eine möglichst intensive Kernfärbung zu bekommen, die Präparate 24—48 Stunden im Malachitgrün liegen lassen. In den Schnitten von Herrn Professor *Orth* hatte die Farbe der Mastzellen wol eine geringe Beimengung von Roth angenommen, in den meinigen waren dieselben dunkelblaugrünschwarz. Da ich, trotzdem die Präparate lange in dem Malachit-

grün verweilt hatten, nur kurze Zeit diese Farbe durch absoluten Alcohol extrahiren liess, so war das Gewebe noch diffus, die Kerne sehr dunkelgrün gefärbt; in den Schnitten von Herrn Prof. *Orth* waren letztere hellgrün. Ein daraufhin angestellter Versuch gab ganz klar Aufschluss.

Mehrere Schnitte von möglichst gleicher Dicke aus derselben Hundezunge wurden gleich lange in Fuchsinlösung erwärmt; (die angewandte Lösung war mit Anilinölwasser hergestellt; aus andern, oben angeführten Befunden ergab sich mir, dass Präparate, welche in solcher Lösung gefärbt und mit Malachitgrün nachgefärbt werden, bezüglich der entstehenden Farbe der Mastzellen sich ebenso verhalten, als wenn zuerst eine einfach wässrige Fuchsinlösung benutzt wurde). Diese so gefärbten Präparate blieben behufs Entfärbung gleich lange in salzsaurem Alcohol, kamen dann in dieselbe Malachitlösung, in welcher sie, nachdem diese erwärmt war, verschieden lange verblieben. Aus dieser Farbe kamen sie alle direkt in absoluten Alcohol und wurden sämmtlich nach einem Aufenthalt von 5 Minuten in Bergamottöl untersucht in Dammarharz. — Zur Controle der erhaltenen Farbe diente ein Schnitt, welcher gleich den übrigen sonst behandelt wurde, er übersprang nur die Malachitfarbe; er verblieb 5 Minuten in absolutem Alcohol, 5 Minuten in Bergamottöl und wurde ebenfalls in Dammarharz dann untersucht.

I. ein Schnitt

7 Minuten in Malachitgrün,

5 Minuten in Alcohol absolutus.

Die Mastzellen sind dunkellilla, roth mit einem geringen Stich ins Blau; ihr Kern ist grün.

Nachdem dieses Präparat 24 Stunden im Dammar-

harz gelegen hatte, war die Farbe der Kerne abgeblasst; aus dem Hellgrün war ein ganz blasses Grün geworden. Auch die Mastzellen erschienen jetzt deutlich dunkelroth; das Blau war an den meisten geschwunden, nur einige wenige waren noch dunkellilla gefärbt. Durch das Eingebettetsein in Dammarharz war somit an den Mastzellen die durch die Malachitfärbung hervorgerufene Mischfarbe grösstentheils beseitigt.

II. mehrere Schnitte

22 Stunden in Malachitgrün,

a) ein Schnitt darauf 5 Minuten in Alcohol absolutus.

Die Muskeln sind noch diffus gefärbt; die Mastzellen sind blaugrünschwarz mit grünem Kern.

Mit Hinweis auf später noch genauer zu machende Angaben darf ich vielleicht einfügen, dass in diesem Schnitte die Schleimdrüsen grün gefärbt waren, ihre Kerne noch dunkler.

b) ein Schnitt darauf $\frac{1}{2}$ Stunde in Alcohol absolutus.

Die diffuse Färbung des Gewebes ist geschwunden, auch die Kerne sind abgeblasst. Die Mastzellen sind blauroth bis dunkelroth, ähnlich wie in dem unter I. beschriebenen Schnitte, nachdem derselbe 24 Stunden in Dammarharz gelegen hatte. Einige Mastzellen haben ihre Farbe, wie sie bei IIa. war, behalten.

Die Schleimdrüsen sind sehr blass, fast farblos; die Kerne derselben sind noch dunkelgrün gefärbt.

Im ganzen Gewebe, namentlich zwischen den Muskeln finden sich in diesem Präparate Netze, welche blauroth bis hellroth gefärbt sind (Fett?).

c) ein Schnitt darauf 1 Stunde in Alcohol absolutus.

Die Kerne sind noch mehr abgeblasst; als bei IIb. Die Mastzellen haben noch mehr die Beimengung von Blau verloren; ein reines Roth ist jedoch noch nicht wie-

der da, wie ein Vergleich mit dem oben erwähnten Controlpräparat zeigt.

Die Schleimdrüsen sind fast ganz entfärbt.

d) ein Schnitt darauf 1 Stunde 20 Minuten in Alcohol absolutus.

Dieses Präparat bot dadurch, dass der Schnitt nicht ganz gleichmässig dick war, ein sehr schönes Bild dar. An den dickeren Stellen waren die Kerne noch blassgrün, die Mastzellen noch deutlich blauroth gefärbt erhalten. Da, wo der Schnitt dünner, war das Gewebe ganz entfärbt, die Kernfärbung verschwunden, nur die des Epithels erhalten. In diesem waren die verhornten Zellen dunkler gefärbt, als die tiefer gelegenen. Die verhornten Zellen behalten ja überhaupt den Farbstoff länger, als die übrigen Schichten des Epithels; sie färben sich jedoch bei dem Nachfärben mit Malachit nicht ebenso, wie die Mastzellen, sie werden nur dunkelgrün. Die Kerne der Mastzellen sind auch an den dünneren Stellen noch blassgrün erhalten; die Körner dieser sind fast hellroth, wie in dem Controlpräparat; eine geringe Beimengung von Blau war jedoch für mein Auge entschieden noch vorhanden.

Auf das deutlichste zeigt somit diese Versuchsreihe, dass durch längeres Liegen in Malachitgrün das einfache Hellroth, hervorgebracht durch vorangegangene einfache Fuchsinfärbung immer mehr zu jener mehrfach beschriebenen Mischfarbe wird, dass immer mehr das Malachit in dieser in den Vordergrund tritt (IIa.); klar liegt aber auch zu Tage, wie leicht dieses sich durch absoluten Alcohol wieder entfernen lässt, dass aber, selbst wenn dass übrige Gewebe schon ganz entfärbt, die Mastzellen immer noch Reste der Malachitfarbe an sich tragen (II d.), ein Umstand, welcher neben dem Resultat von I. deutlich Zeugniß davon ablegt, dass die Mastzellen begierig

auch mit einem zweiten Anilinfarbstoff sich beladen, eine Eigenschaft, welche z. B. den Tuberkelbacillen nicht zugesprochen werden darf.

Sehr bald ¹⁾, nachdem *Ehrlich* seine ersten ²⁾ Untersuchungen über die Mastzellen d. h. über die im Bindegewebe vorkommenden *Waldeyer*'schen „Plasmazellen“ veröffentlicht hatte, nachdem er auf gewisse Punkte hingewiesen, in welchen jene eine ganz besondere Stellung in der grossen *Waldeyer*'schen Gruppe „Plasmazellen“ einnehmen, vervollständigte er diese Angaben; gleichzeitig forschte er nach, welcher Natur die Mastzellen seien, welchen Einfluss namentlich pathologische Zustände auf sie bezüglich ihrer Zahl hätten. Eine eigene Gruppe bilden sie nach dem genannten Autor unter den im Bindegewebe vorkommenden Zellen, ihr Vorkommen ist beim erwachsenen Menschen constant in den einzelnen Organen, ihre Anordnung und ihre Zahl in diesen im Allgemeinen die gleiche bei den gleichen Altersstufen. Sie sollen sich entwickeln aus den fixen Bindegewebszellen und ihre Zahl soll zunehmen bei „local gesteigerten Ernährungszuständen, welche bald durch chronische Entzündungen, bald durch Stauung (braune Induration), bald durch Neubildungen (besonders Carcinome) hervorgerufen werden können“. Auf Grund dieses Befundes legte *Ehrlich* dann den „granulirten“ Zellen den Namen „Mastzellen“ bei. Zu gleichen Resultaten gelangte *Westphal* ³⁾; auch

¹⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie; physiologische Abtheilung. 1879. pag. 166.

²⁾ Archiv für mikroskopische Anatomie. XIII. Band. 1877.

³⁾ l. c.

er lässt die Mastzellen aus einer „Metamorphose der unter besonders günstigen Ernährungsverhältnissen lebenden Bindegewebszellen“ hervorgehen.

Welcher Art jedoch diese Metamorphose der fixen Bindegewebszellen sei, darüber sprechen sich beide Autoren nicht aus.

Dr. Raudnitz ¹⁾ hat versucht, ohne jedoch darüber sich auszulassen, ob auch er die Mastzellen von den Bindegewebszellen herleitet, die Entstehung ersterer aus einer bekannten, sonst noch im Körper vorkommenden Metamorphose, resp. Degeneration zu erklären. Nach ihm sollen die Mastzellen mucinös degenerirte Zellen sein. Zu dieser Annahme glaubte er sich berechtigt, da nach seinen Untersuchungen „die Mehrzahl der übrigen Gewebe und Gewebsflüssigkeiten, für die er eine Rothfärbung durch Violett B. nachweisen konnte“, welches er auch zum Nachweis der Mastzellen benutzte, „Mucin enthalten und letzteres selbst dieselbe Reaction giebt.“ Mannigfache mucinhaltige Massen färbte er; für alle konnte er „die sogenannte Amyloidreaction mit Methylviolett“ nachweisen. Er ist auch scheinbar, ohne jedoch bestimmt sich auszusprechen, nicht abgeneigt, mit *Morochewetz* ²⁾ eine Identität von Mucin und amyloider Substanz anzunehmen. Eingangs seiner Arbeit führt er an, das Amyloid färbe sich ganz so, „carminroth in Methylviolett“, wie die Mastzellen, deren Uebereinstimmung mit Mucin er des Weiteren darlegt. Ja, fast ist man geneigt, aus der Arbeit herauszulesen, dass die Mastzellen amyloid degenerirte Zellen seien, sagt doch *Dr. Raudnitz* einfach, dass nicht

¹⁾ Archiv für mikroskopische Anatomic. XXII. Band. 1883. pag. 228.

²⁾ Petersburger med. Wochenschrift. III. 10. 1878.

nur die Färbung übereinstimme, dass nicht allein die Entfärbbarkeit im absoluten Alcohol die gleiche sei, dass sogar, wie es ihm schiene, „die Jodschwefelsäurereaction bisher die einzige sei, durch welche das Amyloid von der Substanz der Mastzellen unterschieden werden könne.“ Auch das Saffranin soll nach ihm Amyloid und Mastzellen gleich färben.

So erwünscht es sein muss, die Metamorphose der fixen Bindegewebszellen, auf welche *Ehrlich* und *Westphal* die Mastzellen zurückführen, aus einem bekannten physiologischen, resp. pathologischen Prozess erklären zu können, um so mehr bedaure ich, die Resultate, zu denen *Dr. Raudnitz* gelangte, nicht bestätigen zu können. Wir müssen uns so vorläufig mit der einfachen Deutung *Ehrlich's* und *Westphal's* bezüglich der Entstehung der Mastzellen begnügen.

Nicht verschwiegen darf werden, dass *Friedländer* in seiner „mikroskopischen Technik“ pag. 48 sagt, „mit der Mästung ständen die Mastzellen nicht in nachweisbarer Beziehung“; im Uebrigen beschränkt er sich auf das Eingeständniss, dass „die physiologische und pathologische Bedeutung der Mastzellen noch sehr wenig bekannt sei.“

Rücksichtlich der Angabe des *Dr. Raudnitz*, dass Amyloid und Mastzellen sich einmal in denselben Farbstoffen in ganz gleicher Weise färbten, sodann aber auch nachher mit absolutem Alcohol behandelt, in derselben Zeit durch denselben entfärbt würden, stellte ich vergleichende Versuche an mit einer Hundezunge, in welcher bekanntlich die Mastzellen sehr zahlreich sind, und einer Milz, welche schon makroskopisch das typische Bild einer Sagomilz darbot; mikroskopisch erwiesen sich denn auch die Follikel in ausgedehnter Masse amyloid entartet,

Die benutzten Farbstoffe, Methyl- und Gentianaviolett waren von *Schäfer* in Darmstadt bezogen.

Die erhaltenen Resultate waren folgende:

1) Präparate der Hundezunge und Amyloidmilz gleich lange in einer wässrigen Lösung der beiden erwähnten Farbstoffe gefärbt, boten für mich bezüglich der Farbe ein verschiedenes Aussehen dar.

Nach *Dr. Raudnitz* nehmen die Mastzellen in Methyl- und Gentianaviolett eine „carminrothe“ Farbe an; ich möchte diese als Blau mit einem geringen Stich ins Roth, als Violett bezeichnen. So war es wenigstens bei den meisten Mastzellen in meinen Präparaten; sie schienen sich nicht alle ganz gleich gefärbt zu haben. Mannichfache Uebergänge bestanden bis zum intensiven Roth, in dem einzelne wenige sich präsentirten.

Auch *Westphal* gegenüber muss ich somit entschieden bestreiten, dass die durch Dahlia und überhaupt alle violetten Farbstoffe an den Mastzellen hervorgerufene Farbe „der für das Amyloid charakteristischen Färbung zum Verwechseln gleiche.“ ¹⁾

In der Amyloidmilz vermochte ich nämlich nur prachtvoll roth gefärbte Follikel zu entdecken, ein Resultat, welches ich in einem später gelegentlich gemachten, frischen Präparat von einer Niere mit Amyloid nur bestätigen konnte. Es sei mir gestattet, hier einzufügen, dass ich in dieser Niere auch durch Methylviolett, welches mit Anilinölwasser bereitet war, das Amyloid prachtvoll roth färben konnte; legte ich die so gefärbten Schnitte alsdann in Picrolithioncarmin und wusch sie darauf ganz flüchtig in salzsaurem Alcohol ab, so war auch jetzt noch das Amyloid intensiv roth gefärbt bei gleichzeitig roth

¹⁾ l. c. pag. 19.

tingirten Kernen. Die vorher erzielte rothe Färbung des Amyloids wurde also durch das Picrolithioncarmin nicht verdrängt oder verändert.

2) Die Beurtheilung, ob, wie oben angeführt, die Mastzellen nun roth oder violett gefärbt seien, ist immerhin ja sehr subjectiv; zu einer sicheren Entscheidung bezüglich der Identität von Amyloid und Mastzellen möchte ich daher auch vor Allem nur die grosse Verschiedenheit in der Entfärbbarkeit durch absoluten oder salzsauren Alcohol heranziehen, wofür, wie ich glaube, angestellte vergleichende Untersuchungen schlagende Beweise mir gegeben haben.

a) Schnitte von der Hundezunge und der Amyloidmilz wurden gleich lange Zeit in einer wässrigen Methylviolettlösung gelassen. Bei nachherigem Behandeln mit absolutem Alcohol waren nach 5 Minuten in der Milz die Follikel schon ganz entfärbt, als die Kerne noch blau tingirt waren; diese verloren ihre Farbe, nachdem die Schnitte 15 Minuten im Alcohol gelegen hatten.

In der Hundezunge waren die Mastzellen, als der Alcohol 20—30 Minuten auf das Präparat hatte einwirken können, noch sehr wol erhalten.

Es lag nicht in meiner Absicht, wie ich ausdrücklich hervorheben möchte, auf das genaueste den Zeitpunkt festzustellen, wann das eine oder andere Gebilde entfärbt wäre; es war mein Bestreben, die Präparate der Milz und Zunge möglichst verschieden lange den entfärbenden Flüssigkeiten auszusetzen, damit die sich etwa ergebenden Unterschiede klar zu Tage lägen.

In Methylviolettlösung gleich lange gefärbte Schnitte der Zunge und der Milz verhielten sich dem salzsauren Alcohol gegenüber sehr verschieden. Die Follikel waren schon, nachdem sie 1—2 Minuten darin gelegen, ganz

entfärbt; die Mastzellen hatten ihre Farbe selbst nach 20 Minuten sich noch bewahrt.

b) Noch deutlicher tritt der grosse Unterschied zwischen Amyloid und Mastzellen nach Färbung mit Gentiana hervor. Jedem, welcher einmal Schnitte auf Amyloid mit Methylviolett oder Gentiana gefärbt, wird die Beobachtung nicht entgangen sein, wie ungemein vorsichtig man mit der Anwendung von Alcohol und namentlich von Säure sein muss, wie viel besser man thut, wenn man, um gute Präparate zu bekommen, diese beiden ganz vermeidet, nur in Wasser die Schnitte abspült. Allgemein ist es ja auch bekannt, dass man deswegen die so gefärbten Präparate mit Amyloid in Harz nicht einlegen kann; die Einwirkung des Alcohols, welcher behufs der Wasserentziehung nothwendigerweise angewandt werden muss, würde die rothe Farbe des Amyloids vernichten. Ein Gleiches ergab sich auch bei meinen Versuchen mit der Amyloidmilz, während die Mastzellen lange Zeit unbeschadet ihrer Farbe im Alcohol liegen konnten. Ja, nach 45 Stunden, innerhalb welcher ein mit Gentiana gefärbter Schnitt von der Hundezunge der Einwirkung von absolutem Alcohol ausgesetzt, waren die Mastzellen in demselben noch gefärbt, die Gewebkerne waren grösstentheils entfärbt, nur die Epithel- und Drüsenkerne hatten ihre Färbung noch behalten. Ein in ganz gleicher Weise gefärbter Schnitt der Amyloidmilz bot, nachdem derselbe ebenfalls 45 Stunden in absolutem Alcohol gelegen hatte, ein ganz anderes Bild dar; in ihm waren die Kerne noch wol gefärbt, die Follikel dagegen ganz farblos.

Ich muss so *Westphal* vollkommen beistimmen, welcher schon ¹⁾ anführt, dass die mit den gleichen Farb-

¹⁾ l. c. pag. 20.

stoffen erzielte Färbung beim Amyloid sehr bald durch Alcohol entfernt wird, dass dagegen dieselbe an den Mastzellen „unter gleichen Umständen sehr lange persistirt.“

Legte ich Schnitte, gefärbt in wässriger Gentianalösung, in 1 % salzsauren Alcohol, so war nach 45 Stunden das Präparat von der Amyloidmilz ganz entfärbt; in dem der Hundezunge waren die Mastzellen allein noch auf das schönste erhalten.

3) Von grossem Werth für die Entscheidung der schon oft erwähnten Frage musste natürlich die Probe sein, ob denn auch das Amyloid in der von *Ehrlich* als für die Mastzellen charakteristisch bezeichneten sauren Dahliälösung sich färbt; mir gelang es nicht. Verblieb ein in dieser Flüssigkeit gefärbter Schnitt der Amyloidmilz nur kurze Zeit in absolutem Alcohol, so waren die Kerne noch gefärbt, als die Follikel ihre Färbung schon verloren hatten. Durch längeres Liegen im Alcohol wurde der gesammte Schnitt ganz farblos.

Dass Präparate von der Hundezunge, in gleicher Weise behandelt, die prachtvollsten Mastzellen zeigten, braucht vielleicht kaum besonders noch hervorgehoben zu werden.

Hiermit ist die Frage nach der Identität zwischen Amyloid und Mastzellen schon vollständig dahin entschieden, dass eine derartige Annahme als absolut unberechtigt erscheinen muss; wie auf das deutlichste aus obigen Angaben hervorgeht, färben sich einmal Amyloid und Mastzellen in denselben Farbstofflösungen nicht ganz gleich, namentlich aber wird das Amyloid durch absoluten und salzsauren Alcohol erheblich schneller entfärbt.

Als einen weiteren Beweis für die Richtigkeit seiner Annahme führt *Dr. Raudnitz* sodann an, dass Saffranin Amyloid und Mastzellen in gleicher Weise färbe.

Da mir die Abhandlung von *Weiss* ¹⁾, in welcher derselbe die Färbung mit Saffranin als Characteristicum für Amyloid empfiehlt, nicht zu Gebote stand, musste ich mich darauf beschränken, nach eigenem Gutdünken zu verfahren; an Beweiskräftigkeit dürften damit die so gewonnenen Resultate jedoch gewiss nicht eingebüsst haben.

Nachdem Schnitte von der Amyloidmilz und Hundezunge einige Minuten in der Farbflüssigkeit gelegen hatten, welche Herr Prof. *Orth* nach den Angaben des *Dr. Weiss* vor einiger Zeit angefertigt, und welche derselbe mir gütigst überliess, kamen sie behufs Entfärbens in absoluten oder salzsauren Alcohol. Die hierbei gewonnenen Resultate sind, wie ich glaube, einigermaßen bemerkenswerth.

Verweilten gleich lange durch Saffranin gefärbte Schnitte von der Hundezunge und Amyloidmilz einige Zeit in absolutem Alcohol, so boten sich die amyloid entarteten Follikel zwischen den roth gefärbten Gewebskernen als schön orange gefärbte Gebilde dar; in der Zunge hatten die Epithel- und Gewebkerne eine rothe Farbe angenommen, die Muskeln waren diffus roth gefärbt, die Mastzellen ähnlich, wie in der Milz die Follikel; bei allen angestellten Vergleichen hatte ich jedoch den Eindruck, dass für mein Auge in der Farbe der Mastzellen etwas mehr Roth enthalten war. Dabei trat der Kern derselben orangefarben hervor, scharf abgesetzt gegen den Zellenleib, was besonders bei etwas hoher Einstellung deutlich zum Ausdruck kam.

Wirkte der Alcohol länger auf die Schnitte ein, so blieben in der Milz die Kerne erhalten, die Follikel da-

¹⁾ Arch. per le sc. medic. Vol. III., 14. 1879.

gegen wurden sehr bald fast ganz entfärbt, eine blasseröthliche Färbung bewahrten sie sich vielleicht. In der Zunge verschwand in der gleichen Zeit im Alcohol die diffuse Farbe der Muskeln, die Kernfärbung blieb; bei den Mastzellen wurde die Färbung der Körner früher zum Schwinden gebracht, als die des Kerns, welcher sogar jetzt intensiv roth erschien; um denselben fand sich ein blasser Hof, der Rest des vorher orange gefärbten Zelleibes. Nach 24 Stunden waren durch absoluten Alcohol die Follikel in der Milz ganz entfärbt, die Kerne waren blasseröthlich erhalten; das Hundezungenpräparat hatte keine Spur von Färbung mehr.

Ganz eigenthümlich gestalten sich die Verhältnisse, sobald man in Saffranin gefärbte Schnitte in 1 % salzsauren Alcohol bringt. Lagen die Präparate in demselben vielleicht 1—2 Minuten, so waren in der Milz die Follikel zum Theil ganz entfärbt, zum Theil blasseröthlich erhalten, ebenso erschienen die Kerne. In der Zunge traten die Mastzellen intensiv roth und schwach gekörnt hervor, die Kernstellen waren farblos; auch die übrigen Gewebkerne hatten ihre Farbe verloren, nur die Epithelien waren ganz blass gefärbt.

Nicht versäumen möchte ich noch zu erwähnen, dass ich entschieden den Eindruck hatte, als ob in diesem Präparat die Mastzellen an Zahl geringer vorhanden waren, als in andern aus derselben Zungengegend entnommenen.

Konnte der salzsaure Alcohol 3—5 Minuten auf die Schnitte einwirken, so war das Milzpräparat ganz entfärbt, in der Zunge waren allein einige Mastzellen als ganz blass gefärbte Gebilde erhalten.

Nicht versuchen möchte ich, eine Erklärung für dieses merkwürdige Verhalten der Mastzellen zu geben. Ich

darf vielleicht nur noch hervorheben, dass nach diesen Resultaten die Annahme eines gleichen Verhaltens von Amyloid und Mastzellen bei Färbung mit Saffranin als unthunlich erscheinen muss, tritt doch, was namentlich klar zu Tage liegt, bei nachherigem Behandeln mit salzsaurem Alcohol eine ganz andere Farbe an den Mastzellen hervor, wie an den Follikeln.

Nicht unerwähnt möchte ich lassen, dass mit saurer Vesuvinslösung die Follikel in der Amyloidmilz fast farblos bleiben, während mit Hülfe dieser Farbflüssigkeit in der Hundezunge eine schöne Doppelfärbung sich erzielen lässt, indem die Mastzellen dunkler sich färben, als die Gewebkerne. Hierüber noch Näheres zu berichten, werde ich mir unten gestatten.

Aus diesen Untersuchungsergebnissen geht mit grosser Deutlichkeit hervor, dass Amyloid und Mastzellen in ihrem Verhalten bestimmten Farbstoffen gegenüber sich sehr wesentlich unterscheiden.

Sind denn vielleicht die Mastzellen mucinös degenerirte Zellen?

Um diese Frage zu beantworten, machte ich anfangs viele Präparate vom Froschmagen, theils Schabzellenpräparate, welche auf dem Deckgläschen angetrocknet und dann gefärbt wurden, theils Schnitte vom gehärteten Organ. Wol gelang es mir, zahlreiche Becherzellen aufzufinden; nachdem ich mit Methylviolett gefärbt, schöne Kernfärbungen zu erzielen; wol war es mir möglich, ein Gleiches mit Dahlialösung, mit Vesuvins, mit Saffranin zu erreichen, aber der Becher mit etwa vorliegendem Schleim war meist farblos, oder aber nicht charakteristisch gefärbt. Ein gleiches Schicksal hatten Schnitte, welche in der mannichfachsten Weise gefärbt waren. Um so mehr sah ich mich in meinen Erwartungen getäuscht,

als ich der festen Ueberzeugung war, dass es bei der grossen Zahl der Becherzellen im Froschmagen immer gelingen würde, Mucin in einem Theil derselben anzutreffen; ist es doch schon lange bekannt und durch die Angaben von *v. Wittich* ¹⁾ nur aufs Neue bestätigt, dass die Becherzellen „unter dem Einfluss einer Schleimmetamorphose ihres Inhalts“ umgewandelte Epithelzellen sind.

Aber war der Inhalt der Becherzellen im Froschmagen auch wirklich Mucin, nicht Mucigen? Wie sehr dieses beides sich durch ihr Verhalten dem Hämatoxylin gegenüber von einander unterscheidet, dass eben nur das Mucin charakteristisch in diesem Farbstoff sich färbt, das geht schon aus Angaben von *Watney* ²⁾ und *Klein* ³⁾ hervor. Färbungsversuche mit Hämatoxylin an Schnitten vom gehärteten Froschmagen ergaben ein negatives Resultat. Dieser war somit nicht geeignet für diesen Theil der Untersuchungen. Um so vortheilhafter erschien es mir, den der Wurzel zunächst gelegenen Theil einer Hundezunge heranzuziehen, wo nach *v. Ebner* ⁴⁾ Schleimdrüsen in zahlloser Menge sich finden. Ein Schnitt mit Hämatoxylin gefärbt zeigte denn auch die nach diesem Autor charakteristische Zeichnung der Drüsenacini. Um so geeigneter muss die Hundezunge erscheinen, um zu entscheiden, ob Mucin und Mastzellen identisch sind, da in dieser Schleimdrüsen und Mastzellen in grosser Zahl in einem Schnitt vorhanden sind. Da somit auch beide Gebilde dem Einfluss der Farbstoffe, der Einwirkung der

¹⁾ *Hermann*, Handbuch der Physiologie. V., 2. pag. 281.

²⁾ Royal Society of London Proceedings. Vol. XXII. 1874, pag. 294.

³⁾ Journal of microscopical Science New Series. Vol. XIX. 1879, pag. 151.

⁴⁾ Acinöse Drüsen. Graz. 1873.

diese wieder extrahirenden Flüssigkeiten gleich lange ausgesetzt sind, so können die so gewonnenen Resultate nur an Beweiskraft gewinnen.

Auch bei Beantwortung dieser Frage musste natürlich die Probe mit der *Ehrlich'schen* sauren Dahliälösung in erster Linie herangezogen werden. Nach meinen Versuchen ergab sich dabei, dass eine völlige Uebereinstimmung bezüglich der Farbe zwischen Mucin und Mastzellen keineswegs besteht. Wol treten in den sonst farblosen Schnitten die acinösen Drüsen als blau gefärbte Gebilde sehr schön zu Tage; auffallend ist es jedoch, dass bei Betrachtung mittelst stärkerer Vergrösserung die Zellgrenzen verloren gegangen sind; blaue Massen von verschiedener Grösse finden sich im Bereich der Drüsen, Massen, welche ganz den Eindruck machen, als ob sie der Oberfläche aufgelagert wären. Bei sehr starker Vergrösserung lassen sie sich in Körner von verschiedener Grösse, von mannichfacher Gestalt auflösen; kleine stäbchenförmige Körper lassen sich auch in ihnen in verschiedener Zahl auffinden. Dieser eigene Befund, dessen Erklärung mir fern liegt, muss schon ein wenig stutzig machen, ist doch, soweit mir bekannt, das Mucin in den Zellen selbst enthalten, wird doch dieses alsdann aus ihnen in das Drüsenlumen entleert, aus welchem es in die Zweige des Ausführungsganges, in diesen selbst gelangt. Eine genaue Betrachtung lehrt dann aber auch auf das deutlichste, dass die durch die saure Dahliälösung erzielte Farbe an den Schleimdrüsen und Mastzellen eine sehr verschiedene ist; an den ersteren ist es ein fast reines Blau, an letzteren, wie bekannt, ein Violett bis rein Roth. Um so sicherer darf diese Angabe erscheinen, als es mit Leichtigkeit bei der grossen Zahl der in Frage stehenden Gebilde gelingt, beide in einem Gesichtsfelde zu haben,

sie somit unmittelbar mit einander vergleichen zu können.

Hämatoxylin, welches, wie schon erwähnt, nach Angabe verschiedener Autoren für Mucin ein ganz charakteristischer Farbstoff ist, liess in allen meinen daraufhin gefärbten Schnitten die Mastzellen unbeeinflusst. Sehr schön waren die Schleimdrüsen zu erkennen, sehr wol traten in ihnen die Drüsenzellen hellviolett hervor, sehr gut waren die Gewebkerne gefärbt, aber trotz eifrigsten Suchens liessen Mastzellen sich in den Schnitten nicht finden. Anzunehmen, dass sie überhaupt in ihnen nicht vorhanden gewesen wären, dafür wüsste ich keinen triftigen Grund anzuführen; mit saurer Dahlialösung gelang es mir stets, in allen Schnitten der Hundezunge Mastzellen nachzuweisen.

Dürften schon diese beiden Farbstoffe zur Genüge gezeigt haben, dass sie in verschiedener Weise auf Mucin und Mastzellen einwirken, so zeigt eine Färbung mit Fuchsin und nachfolgendem Malachit dazu noch auf das deutlichste, dass Mucin und Mastzellen auch hierbei erheblich von einander abweichen.

Wie schon früher auseinandergesetzt, färbt eine einfache Fuchsinlösung, sei sie mit Wasser oder mit Anilinölwasser bereitet, die Mastzellen gerade so, wie die Tuberkelbacillen; bei den Schleimdrüsen der Zunge ist die erzielte Farbe heller, ein Hellroth, welches an manchen Stellen in ein Hellviolett übergeht. Legte ich, nachdem die Fuchsinfarbe einige Minuten auf die Schnitte eingewirkt, nachdem diese in salzsaurem Alcohol gewesen waren, sie für 48 Stunden in eine wässrige Malachitgrünlösung, so waren, wenn letztere in absolutem Alcohol nur eben abgewaschen war, in der Hundezunge die Mastzellen in der für sie charakteristischen Weise, dunkel-

blaugrünschwarz gefärbt bei hellgrünen Kernen; in denselben Schnitten hatten die Schleimdrüsen eine diffuse hellgrüne Farbe angenommen, während ihre Kerne dunkler waren; das Gewebe war diffus grün gefärbt. Gewiss darf der so beschriebene Schnitt nicht allzuviel beweisen dürfen; mit Recht würde man sonst sagen können, dass bei der noch bestehenden diffusen Färbung des Gewebes die feinere Unterscheidung der Farbennüancen sehr erschwert wäre. Ein längeres Verweilen der Schnitte in absolutem Alcohol half dem leicht ab; z. B. ein Liegen von $1\frac{1}{2}$ Stunden in demselben brachte die diffuse Farbe zum Verschwinden, alle Gewebskerne waren ungefärbt, die verhornten Epithelien waren noch grün, die Mastzellen roth mit einem geringen Stich ins Blau, ihre Kerne hell, ganz blassgrün; und die Schleimdrüsen, sie waren ganz blassröthlich gefärbt, ihre Kerne grün.

Hinweisen darf ich vielleicht auf die Angaben, welche gelegentlich der Färbung der Mastzellen mit Fuchsin und nachfolgendem Malachit gemacht wurden; schon dort führte ich das ganz verschiedene Verhalten der Schleimdrüsen an.

Herr Prof. *Orth* übergab mir gütigst folgenden Befund, welcher auf das beste meine Untersuchungsergebnisse bestätigt. — Veranlasst durch die Angabe, dass mit Jodgrün die Muskeln eine ganz charakteristische Farbe annahmen, färbte Herr Prof. *Orth* damit auch einen Schnitt der Hundezunge. Schon vorher hatte er sich überzeugen können an einer Froschharnblase, dass ganz entsprechend obiger Angabe die Muskeln roth sich färbten; sehr bald musste er aber auch die Erfahrung machen, dass ein etwas längeres Liegen in absolutem Alcohol Alles vernichtet, dass somit die mit Jodgrün gefärbten Schnitte mit grosser Vorsicht behandelt werden müssen.

Benutzt wurde eine wässrige Lösung des Jodgrüns.

In einem hierin gefärbten Schnitte der Hundezunge waren, nachdem das Präparat nur kurze Zeit im Alcohol gelegen hatte, die Musculatur hellviolett gefärbt, die Kerne grün, die Mastzellen dunkelviolett und die Schleimdrüsen diffus grün. Sehr wol stimmt dieser Befund mit der Angabe *Westphal's* ¹⁾, dass die meisten grünen Anilinfarbstoffe verunreinigt seien mit Methylviolett. Um dieses zu finden, ist ein fast ganz sicheres Criterium die Färbung auf Mastzellen; sie nehmen mit Vorliebe einen violetten Farbenton an. Die Schleimdrüsen theilen mit ihnen diese Eigenschaft nicht; bei der Anwendung des Jodgrüns ergibt sich dieses auf das deutlichste.

Muss es schon von vornherein, da, wie ich glaube dargethan zu haben, weder Amyloid und Mastzellen, noch Mucin und diese als identisch bezeichnet werden dürfen, soweit es sich durch Färbungen feststellen lässt, als höchst unwahrscheinlich erscheinen, dass dann Mucin und Amyloid sich decken werden, so beweisen Versuche mit Farbstoffen, welche für eins von diesen beiden als charakteristisch bezeichnet und anerkannt sind, dass diese auf das andere nicht in gleicher Weise einwirken.

Hämatoxylin färbte in der mehrfach von mir angeführten Amyloidmilz einzelne Follikel hellviolett; in dieser erzielten Farbe war jedoch, wie aus einem gleich lange in der Farbflüssigkeit belassenen Schnitt der Hundezunge auf das deutlichste hervorging, bedeutend mehr Roth enthalten, als in dem Violett der Schleimdrüsen.

Saffranin wirkte ebenfalls gleich lange auf Schnitte von der Amyloidmilz und der Hundezunge ein; bei nachheriger Behandlung der Präparate mit salzsaurem Alco-

¹⁾ l. c. pag. 27.

hol waren in der Milz die Kerne blassroth gefärbt, die Follikel ganz entfärbt; in der sonst farblosen Zunge traten die Schleimdrüsen, wie die Mastzellen deutlich roth zu Tage, doch waren erstere dunkler. Durch Alcohol blieb die orangerothe Farbe der Milzfollikel erhalten, bewahrten die Kerne ihr dunkelrothes Aussehen. In dem im Uebrigen ähnlich gefärbten Zungenpräparat war nicht zu verkennen, dass in dem Orange der Schleimdrüsen und der Mastzellen entschieden mehr Roth vorhanden war, als in den ähnlich gefärbten Milzfollikeln.

Aufmerksam gemacht durch die gelegentlich der Doppelfärbungen erzielten Resultate, glaubte ich auch einmal versuchen zu müssen, wie denn Vesuvin allein den Mastzellen gegenüber sich verhalte. In den Erwartungen, welche ich nach jenen erwähnten Thatsachen haben durfte, bin ich denn auch in keiner Weise enttäuscht worden. Mit Vesuvin allein lassen sich sehr gute Doppelfärbungen, wie ich sie fast nennen möchte, erzielen, Bilder, welche nach Zusatz von etwas Salzsäure zur Farbstofflösung an Schönheit und Uebersichtlichkeit erheblich gewinnen, wie des Weiteren auseinandergesetzt werden soll.

Als Präparate dienten wiederum Schnitte von der Hundezunge.

In diesen war, wenn eine einfach wässrige Vesuvinlösung eine gewisse Zeit auf sie eingewirkt und absoluter Alcohol sie entwässert hatte, das Gewebe gelbbraun, die Kerne desselben blasser gefärbt; nur die Kerne des Epithels und der Drüsen hatten einen dunkleren Farbenton angenommen; die Mastzellen waren noch dunkler gefärbt, sie waren als dunkelbraune Gebilde überall, namentlich

aber zwischen den blassen Gewebskernen sehr schön zu erkennen. Lag ein in Vesuvio so gefärbter Schnitt eine Zeit lang in 1% salzsaurem Alcohol, so konnte ich mich sehr leicht überzeugen, dass dann die Farbe des Gewebes und der Kerne nicht unerheblich binnen Kurzem abgeblasst, dass dagegen die der Mastzellen sehr wohl erhalten geblieben war. Das Aussehen des Schnittes hatte sich somit durch den Aufenthalt im salzsauren Alcohol nicht unerheblich geändert; dieser musste also in anderer Weise auf die einzelnen durch Vesuvio gefärbten Gebilde einwirken, als absoluter Alcohol. Um dieses etwas eingehender zu untersuchen, sodann aber auch um festzustellen, welchen Einfluss ein längeres Verweilen in der Farbflüssigkeit auf das Gewebe und die Kerne einerseits, auf die Mastzellen andererseits habe, ob dann vielleicht der Unterschied in der Farbe zwischen Kernen und Mastzellen, welcher oben constatirt und angeführt wurde, sich verwische, legte ich Schnitte einmal gleich lange in Vesuvioinlösung und behandelte sie nachher theils mit absolutem, theils mit 1% salzsaurem Alcohol; auf andere konnte die Farbe sehr verschieden lange einwirken. Die Art der Anordnung der Versuche, die hierbei gewonnenen Resultate seien hier angeführt.

Benutzt wurden Schnitte der Hundezunge; sie wurden gefärbt mit einfach wässriger, concentrirter Vesuvioinlösung.

I. Mehrere Schnitte 5 Min. in Farbe.

a. ein Schnitt darauf 5 Min. in Alcohol absolutus.

Gewebe gelbbraun, Kerne blassbraun, die der Epithelien und der Drüsen dunkler; die Mastzellen namentlich zwischen den blass gefärbten Kernen der unter dem Epithel gelegenen Schicht braun hervortretend.

- b. ein Schnitt darauf 5 Min. in salzsaurem Alcohol und dann entwässert.

Gewebe blassgelb, Kerne sehr blass, namentlich unter dem Epithel; Epithel- und Drüsenkerne hellbraun. Mastzellen schön hervortretend, scheinbar sogar absolut dunkeler, als bei Ia.

II. Schnitte 1 Stunde in Farbe.

- a. ein Schnitt darauf 5 Min. in Alcohol absolutus.

Gewebe und Muskeln hellbraun, unter dem Epithel ist das Gewebe hellgelb. Kerne dunkler, namentlich die des Epithels und der Drüsen. Mastzellen fast schwarz, aber schlecht zu unterscheiden.

- b. ein Schnitt darauf 5 Min. in salzsaurem Alcohol.

Gewebe und Kerne blasser, als bei IIa. Mastzellen schön hervortretend; sie sind dunkler, als bei Ib.

III. Schnitte 24 Stunden in Farbe.

- a. ein Schnitt darauf 5 Min. in Alcohol absolutus.

Gewebe gelbbraun, die Kerne desselben dunkelbraun; die des Epithels und der Drüsen fast schwarz. Mastzellen auch fast schwarz.

- b. ein Schnitt darauf 5 Min. in salzsaurem Alcohol.

Gewebe und Kerne sind blasser, als bei IIIa. Mastzellen sind unverändert, ganz so, wie bei IIIa., sie treten schön hervor.

Klar zu Tage liegt somit, wie man es freilich auch mit grosser Wahrscheinlichkeit erwarten durfte, dass, je länger das Vesuin einwirken kann, um so dunkler Alles gefärbt wird, wie ein Vergleich von Ia. und IIIa. sofort ergibt. Des Weiteren wird man aber auch sich überzeugen müssen, dass absoluter und 1% salzsaurer Alcohol keineswegs von gleicher Wirkung sind auf die mit

Vesuvium gefärbten Schnitte, dass aber namentlich diesen beiden Flüssigkeiten gegenüber Kerne und Mastzellen sich nicht in ganz gleicher Weise verhalten. Der salzsaure Alcohol entfärbt das Gewebe und die Kerne viel mehr, als die Mastzellen, wie ein Vergleich eines so behandelten Schnittes mit einem solchen sofort ergibt, welcher gleich lange in absolutem Alcohol war. Letzterer entfärbt das Präparat augenscheinlich mehr gleichmässig, in gleicher Weise auf Kerne und Mastzellen Farbe entziehend wirkend; ersteres greift die Kerne in viel höherem Grade an, als die Mastzellen, ja letztere noch weniger, als absoluter Alcohol. Anfangs war ich durch letztere Thatsache aufs höchste überrascht. Ich bemühte mich, von jedem Irrthum mich frei zu halten, da ich mir wohl bewusst war, wie leicht ein relativ dunkler Erscheinen, d. h. bei den in diesen Präparaten heller gefärbten Kernen für ein absolutes angesehen werden konnte; ich verglich die verschiedensten Schnitte mit einander, aber immer kam ich zu demselben Resultat, welches ich daher mit Bestimmtheit constatiren zu können glaube.

IV. Schnitte 5 Min. in Farbe.

- a. ein Schnitt darauf 24 Stunden in Alcohol absolutus.

Gewebe hellgelb, namentlich blass unter dem Epithel. Muskelkerne hellbraun, die unter dem Epithel ganz blass gefärbt; die Kerne des Epithels und der Drüsen sind mehr braun. Die Mastzellen sind unter dem Epithel zu erkennen, im übrigen Gewebe sehr schwer.

Alles, auch die Mastzellen, ist blässer als bei Ia.

- b. ein Schnitt darauf 24 Stunden in salzsaurem Alcohol.

Gewebe hellgelb, ganz farblos unter dem Epithel; Gewebkerne ganz entfärbt, die des Epithels und der

Drüsen hellbräunlich. Die Mastzellen sind schön zu sehen, sie sind scheinbar dunkler, als bei IVa.

Alles ist blasser, als bei Ib., mässigen Grades auch die Mastzellen.

V. Schnitte 1 Stunde in Farbe.

a. ein Schnitt darauf 24 Stunden in Alcohol absolutus.

Gewebe gelbbraun bis braungelb, unter dem Epithel blassgelb. Kerne blassbräunlich, die des Epithels und der Drüsen hellbraun. Mastzellen dunkelbraun.

Alles ist blasser, auch die Mastzellen, als bei IIa.

b. ein Schnitt darauf 24 Stunden in salzsaurem Alcohol.

Gewebe hellgelb, unter dem Epithel nur eben etwas gelblich angehaucht, Kerne in den Muskeln mit ganz geringem Anflug von Bräunlich versehen, unter dem Epithel farblos. Die Mastzellen sind sehr schön zu sehen.

Alles ist blasser, als bei IIb., in sehr geringem Grade auch die Mastzellen.

VI. Schnitte 24 Stunden in Farbe.

a. ein Schnitt darauf 24 Stunden in Alcohol absolutus.

Gewebe braungelb, unter dem Epithel blasser; die Kerne des Epithels und der Drüsen dunkelbraun; die in den Muskeln sind wegen der Farbe des Gewebes schlecht zu erkennen, unter dem Epithel sind sie blass hellbraun. Die Mastzellen sind schwarzbraun und schön zu sehen.

Alles ist blasser, als IIIc., auch die Mastzellen.

b. ein Schnitt darauf 24 Stunden in salzsaurem Alcohol.

Gewebe braungelb, unter dem Epithel heller; Kerne des Epithels und der Drüsen sind etwas heller, als bei VIa. Die Gewebkerne sind schön zu sehen, sie sind

hellbraun, unter dem Epithel heller. Die Mastzellen sind schön erhalten, augenscheinlich etwas dunkler, als bei VIa.

Alles ist blasser, auch sehr mässigen Grades die Mastzellen, als bei IIIb.

VII. Schnitte 24 Stunden in Farbe.

a. ein Schnitt darauf 144 Stunden in Alcohol absolutus.

Gewebe gelbbraun, unter dem Epithel blasser; Kerne in den Muskeln blassbräunlich, unter dem Epithel heller, die des Epithels und der Drüsen hellbraun. Die Mastzellen sind dunkelbraun.

b) ein Schnitt darauf 144 Stunden in salzsaurem Alcohol.

Alles ist blasser, als bei VIIa; nur die Mastzellen sind entschieden dunkler.

Eine Betrachtung dieser Schnitte zeigt auf das deutlichste, wie verschieden dieselben nach Anwendung von absolutem und salzsaurem Alcohol ihr Aussehen ändern, ein Umstand, welcher schon erwähnt wurde. Hier kommt es auf das schönste zum Ausdruck. Ein Vergleich von IVa. und IVb. z. B. lehrt uns sofort, dass der absolute Alcohol auf alle Gewebsbestandtheile, die Mastzellen einbegriffen, wol gleichmässig einwirkt, die Schnitte in allen Gebilden gleichmässig entfärbt; durch den salzsauren Alcohol dagegen werden in erster Linie das Grundgewebe und die Kerne angegriffen, in ihnen die Farbe in viel höherem Grade entfernt, als in gleicher Zeit durch absoluten Alcohol geschieht; im salzsauren Alcohol bleiben aber die Mastzellen fast unberührt, in ganz geringem Grade büssen sie durch denselben in ihrer Farbe ein. So treten sie denn im Präparat IVb. auf das prachtvollste hervor, sie lassen sich überall zwischen den blasser gefärbten übrigen Gewebsgebilden aufs schönste erkennen.

Ein Gleiches ergibt sich bei einem Vergleich von Va. und Vb., zwischen VIa. und VIb., von VIIa. und VIIb.

Durch längeres Liegen in dem Vesuv in nimmt ja Alles eine dunklere Farbe an; sehr erschwert ist es daher im Schnitt VIa. z. B. zwischen den dunkelbraun gefärbten Drüsenkernen die freilich schwarzbraun gefärbten Mastzellen ganz deutlich zu unterscheiden; um wie viel leichter ist dieses im Schnitt VIb. Das Behandeln mit salzsaurem Alcohol hat das schönste und klarste Uebersichtsbild geschaffen. So verhält es sich bei allen Präparaten, welche etwas länger in dem Vesuv in verweilen; in ihnen allen entzieht der absolute Alcohol zu sehr auch den Mastzellen die Farbe; salzsaurer Alcohol, welcher dieselben fast verschont, lässt sie auf das schönste im Gewebe hervortreten.

Schon mehrfach musste ich erwähnen, dass ein längeres Verweilen im absoluten oder salzsauren Alcohol nicht ohne entfärbenden Einfluss auf die Schnitte ist; ein Vergleich von Ia. und IVa. zeigt dieses zur Genüge. Ich muss somit einer Angabe des *Dr. Griesebach* ¹⁾ widersprechen, nach welcher das Bismarckbraun, nach diesem Autor identisch mit Vesuv in (cf. die Tabelle in dem angeführten Aufsatz pag. 134) „der ausziehenden Wirkung des Alcohol gegenüber sich resistent verhält“. Ich möchte lieber die Entfärbbarkeit des Vesuv in als eine im Verhältniss zu andern Farbstoffen geringe bezeichnen. Noch andere, unten zu erwähnende Versuche liessen sie als vorhanden constatiren.

Um die grosse Differenz im Aussehen, je nachdem Schnitte, in concentrirter wässriger Vesuv inlösung gefärbt,

¹⁾ Archiv für mikroskopische Anatomie. XXII. B. 1883, pag. 137.

darauf in absoluten oder salzsauren Alcohol gebracht wurden, noch deutlicher zu erweisen, glaube ich, folgenden Befund anführen zu müssen.

Schnitte der Hundezunge wurden 5 Minuten in concentrirter Vesuvinfarbe gelassen und darauf theilweise in absoluten, theilweise in salzsauren Alcohol gelegt. Nach 18 Tagen zeigte eine vergleichende Untersuchung, dass in einem Schnitt, welcher in dem 1% salzsauren Alcohol gewesen, blasser war, als in einem solchen, auf welchen der absolute Alcohol eingewirkt hatte:

1. das Grundgewebe,
2. die Gewebs- und Epithelkerne.

Die Mastzellen waren in beiden Präparaten im Wesentlichen gleich dunkel; in dem Schnitt, welcher in dem 1% salzsauren Alcohol gelegen hatte, waren sie sogar entschieden dunkler. Ein Gleiches ergab sich bei der Untersuchung von Schnitten, welche 21 Tage, 2 Monate in den die Farbe ausziehenden Flüssigkeiten gelegen hatten. Nach 2 Monaten hatten die Gewebskerne etc. sehr an Färbung eingebüsst, ja sie waren fast ganz entfärbt mit gewissen Abstufungen, die Mastzellen waren aber auch jetzt noch dunkelbraunschwarz gefärbt, wie es besonders schön die Schnitte zeigten, welche unter dem Einfluss des 1% salzsauren Alcohols gestanden hatten.

Präparate, welche nach der Vesuvinfärbung in Glycerin kamen, zeigten ebenfalls den oben beschriebenen Unterschied in der Färbung der Kerne und der Mastzellen; auch in Glycerin hielt sich diese Färbung Wochen lang. Durch längeres Liegen in dieser Flüssigkeit wurden allmählich die Kerne etwas blasser, während die Mastzellen dunkel blieben, fast unverändert, wie einige Wochen vorher.

Ist es schon, fragen wir uns jetzt einmal, was denn

den grossen Unterschied im Aussehen bewirke, je nachdem die Schnitte, welche in concentrirter Vesuvinlösung gefärbt waren, mit absolutem oder salzsaurem Alcohol behandelt wurden, von vornherein anzunehmen, dass dieses im Wesentlichen durch den Säuregehalt der letzteren Flüssigkeit hervorgerufen werde, so beweist ein Präparat, welches in einer mit Salzsäure angesäuerten Vesuvinlösung gefärbt war, dieses ganz deutlich. Dasselbe verblieb gleich lange in der Farbe, wie das pag. 42 unter Ia. aufgeführte; gleich lange wirkte auch der absolute Alcohol auf dasselbe ein. Und in ihm war das Gewebe, die Gewebskerne, die Epithelien heller, die Mastzellen dagegen dunkler gefärbt, als in dem Schnitt pag. 42 Ia.

Sehr weit darf man mit dem Salzsäurezusatz gehen. Selbst wenn 11—12 Tropfen reiner Salzsäure einem kleinen Uhrschildchen mit Vesuvinlösung zugesetzt wurden, trat immer noch die erheblich dunklere Farbe der Mastzellen unter dem jetzt fast ungefärbten Grundgewebe und Kernen sehr wol hervor. Auch jetzt machte sich der Einfluss vom absoluten Alcohol in bekannter Weise geltend, auch jetzt wurde der Schnitt durch längeres Liegen in demselben fast gleichmässig entfärbt, die Mastzellen vielleicht etwas weniger, als das übrige Gewebe.

Es darf nicht verschwiegen werden, dass mit steigendem Säurezusatz zur wässrigen Vesuvinlösung auch die Färbung der Mastzellen weniger intensiv, ihre Farbe weniger dunkel wird. Störend ist jedoch dieser Umstand keineswegs; immer stechen die dunkel gefärbten Mastzellen vollauf genügend gegen die gleichzeitig auch immer heller gefärbten Gewebskerne ab.

Mit Hülfe dieses Salzsäurezusatzes gelingt es so leicht, eine schöne Doppelfärbung zu bekommen. Niemals, so lange Präparate auch in angesäuerter Vesuvin-

lösung liegen mögen, wird die Farbe der Mastzellen und der Kerne gleich, stets bleibt der Unterschied in der Färbung, wie es nach kürzerem Verweilen der Schnitte in der Vesuvinlösung war, bestehen; durch längeres Liegen in derselben dunkelt nur Alles gleichmässig nach.

Zu weit darf man jedoch mit dem Salzsäurezusatz nicht gehen, wenn man noch in einem Schnitte Kerne und Mastzellen gleichzeitig gefärbt haben will. Lässt ein geringer Säurezusatz das Gewebe und die Kerne weniger intensiv gefärbt erscheinen, so tritt, wenn z. B. einem Uhrschildchen Vesuvinlösung 13—14 Tropfen reiner Salzsäure zugesetzt wurden, nur eine diffuse Färbung des Gewebes ein, in welcher eine Kernfärbung nicht vorhanden ist; die Mastzellen sind aber auch jetzt noch sehr wol gekörnt erhalten. Ein gleiches Resultat bekam ich, wenn ich Schnitte, gefärbt in einfacher Vesuvinlösung, nachher in $33\frac{1}{3}\%$ Salpetersäure legte. Auch dann, wenn die Präparate nur kürzere Zeit in dieser lagen, traten die Mastzellen wol gekörnt im diffus gefärbten Gewebe hervor; wirkte die Salpetersäure länger auf die Schnitte ein, so verschwand aber auch die Körnung der Mastzellen. Selbst mit der stärksten Vergrösserung war sie nicht mehr zu erkennen, diffus dunkel braunschwarz bis schwarz gefärbte Stellen zeigten die Lage und Zahl der Mastzellen an.

Die schönsten und brauchbarsten Färbungen lieferte mir eine concentrirte 4—5% salzsäurehaltige Vesuvinlösung, eine Zusammensetzung, wie ich sie mir nach mannichfchem Versuchen und Ausprobiren berechnet hatte. Ihr Werth ergibt sich sofort, wenn man 2 Schnitte vergleicht, von denen der eine in einfacher, der andere in 4—5% salzsäurehaltiger Vesuvinlösung gefärbt wurden, beide gleich lange; beide lagen gleich lange in absolu-

tem Alcohol. Man überzeugt sich dann leicht, dass durch die einfache Vesuvinlösung Grundgewebe, Kerne und Epithelien dunkler, die Mastzellen vielleicht etwas heller gefärbt worden sind, als in dem Präparat, welches in der angesäuerten Lösung gewesen. Sofort wird man aber auch zugestehen müssen, dass letzteres Bild an Uebersichtlichkeit und Klarheit dem ersteren bedeutend überlegen ist. In diesem stört die dunkle Färbung der Epithelien sehr; fast unmöglich ist es, an einzelnen Stellen bei schwacher Vergrößerung dicht unter der Epithelschicht genau die Zahl der Mastzellen festzustellen, ein Umstand, welcher bei Benutzung der 4—5% salzsäurehaltigen Vesuvinlösung gar nicht in Frage kommen kann.

Nicht unterbleiben darf es, anzuführen, dass, wie es nach früher erwähnten Erfahrungen leicht verständlich und erklärlich ist, Schnitte ziemlich lange, d. h. einige Minuten in dieser angesäuerten Lösung bleiben müssen, wenn man eine einigermaßen intensiv dunkle Kernfärbung erzielen will; durch den Salzsäurezusatz wird eben eine schnelle Kernfärbung verhindert. Lag ein Schnitt 1—2 Minuten in der jetzt in Frage stehenden Lösung, so war das Gewebe fast farblos, die Kerne blassbraun; in einfacher Vesuvinlösung wird Beides in der gleichen Zeit nicht unbedeutend dunkler gefärbt. Durch ein längeres Verweilen in der angesäuerten Lösung nimmt Alles, namentlich das Grundgewebe einen dunkleren Farbenton an; ein Gleiches thun die Mastzellen, sodass das Bild auch dann an Uebersichtlichkeit gar nicht eingebüsst hat.

Längeres Liegen in absolutem Alcohol hatte auf Schnitte, welche in dieser 4—5% salzsäurehaltigen Vesuvinlösung gefärbt waren, den schon mehrfach angeführten entfärbenden Einfluss. Auch in ihnen wurde das Grundgewebe bald und in erster Linie entfärbt, auch hier

verloren die Kerne früher und in etwas ausgedehnterem Masse ihre Färbung, als die Mastzellen, welche letztere selbst in Schnitten, die mehr als 3 Wochen in absolutem Alcohol gelegen, eine dunkle, sehr schön hervortretende Farbe behalten hatten.

Der grosse Werth einer angesäuerten Vesuvinklösung lässt sich vielleicht in Kürze dadurch zum Ausdruck bringen, dass man sagt: in einer solchen werden die Mastzellen früh gefärbt, sie nehmen eine dunkle Farbe an, sie werden spät durch Alcohol entfärbt; die Kerne dagegen werden spät und stets heller gefärbt, sie werden früh durch Alcohol entfärbt.

Stets wird es somit gelingen, eine vollauf genügende Mastzellenfärbung zu erzielen; wie weit, wie intensiv die Kerne dabei gefärbt sind, hat man vollständig in der Hand, einmal, wie lange man die Schnitte in der angesäuerten Vesuvinklösung belässt, sodann, wie lange man die so gefärbten Präparate der Einwirkung des absoluten Alcohols aussetzt.

